*PRKAG*3 基因在不同品种猪不同生长阶段骨骼肌中的表达差异及其表达量与肉质的关系[1]

李梦云[1]　郑　萍[2]　李婉涛[1]　陈代文[2*]

（1.河南牧业经济学院饲料工程中心，郑州 450011；2.四川农业大学动物营养研究所，雅安 625014）

摘　要：本试验中旨在比较 *PRKAG*3 基因在不同品种猪不同生长阶段骨骼肌中的表达差异，并探讨 *PRKAG*3 基因与肉质的关系。挑选 15 kg 左右的汉普夏阉公猪 17 头和长撒阉公猪 16 头，饲喂相同饲粮，当体重分别达到 20 和 50 kg 时，2 个品种的猪分别屠宰 5 头，体重达到 100 kg 时分别屠宰 7 和 6 头。各生长阶段屠宰后均测定骨骼肌 pH、肌糖原含量以及 *PRKAG*3 基因表达量，且在 100 kg 阶段屠宰后同时测定肉质性状。结果表明：1）在不同生长阶段长撒猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量均高于汉普夏猪，特别是在 100 kg 阶段，长撒猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量是汉普夏猪的 6.81 倍（$P<0.05$）。长撒猪与汉普夏猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量均随体重的增加而增加，但汉普夏猪不同生长阶段 *PRKAG*3 基因的表达量差异不显著（$P>0.05$），而长撒猪 *PRKAG*3 基因的表达量在 100 kg 阶段时显著高于 20 和 50 kg 阶段时（$P<0.05$）。2）汉普夏猪和长撒猪的肉质存在差异。汉普夏猪的滴水损失和失水率显著高于长撒猪($P<0.05$)，而熟肉率、b 值极显著低于长撒猪($P<0.01$)，剪切力和 pH2（屠宰后 24 h 的 pH）显著低于长撒猪($P<0.05$)。与长撒猪相比，汉普夏猪具有较高的肌糖原含量（$P>0.05$）。3）猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量与肉质的相关性存在品种效应。汉普夏猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因表达量与滴水损失呈正相关，与熟肉率呈负相关，与 pH2 呈显著负相关（$P<0.05$）。长撒猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因表达量与滴水损失和失水率呈正相关，与 pH2 呈负相关。上述结果表明，猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因具有品种和生长阶段表达差异；猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量与肉质性状相关，特别是与 pH2，二者呈负相关。

关键词：猪；*PRKAG*3 基因；表达差异；肉质；相关性

中图分类号：S828.2　文献标识码：A　文章编号：

一磷酸腺苷激活蛋白激酶(AMPK)是一种能被一磷酸腺苷（AMP）激活的蛋白激酶，参

收稿日期：2016-11-11

基金项目：国家“973”项目（2012CB124701）；校科技创新团队（HUAHE2015005）

作者简介：李梦云（1970–），湖北监利人，副教授，博士，主要从事猪营养研究。E-mail: limengyun1@163.com

*通信作者：陈代文，教授，博士生导师，E-mail： chendw@scau.edu.cn

与体内营养代谢调节，在糖代谢中起着非常重要的作用[1]。在小鼠上的研究表明，激活AMPK可通过磷酸化作用抑制糖原合成酶活性，降低糖原的合成速率，并可导致葡萄糖转运子4(GLUT-4)从细胞内移位到细胞浆膜上，促进肌肉对葡萄糖的吸收，从而提高骨骼肌中糖原含量[2]，进而可能影响肉质。AMPK由催化亚基α、调节亚基β和γ构成，α和β亚基分别有2种同工型，γ亚基有γ1、γ2、和γ3 3种同工型。*PRKAG*3（protein kinase adenosine monophosphate-activated γ3-subunit）基因是编码AMPK γ3亚基的基因，只特异性在骨骼肌中表达[3]。Milan等[4]报道，汉普夏猪*PRKAG*3基因的第200个密码子发生突变（Arg^{200}→Gln^{200}），可降低AMPK活性，使骨骼肌中糖原含量升高70%，导致猪肉终pH降低，是引起汉普夏猪酸肉效应的根本原因。Ciobanu等[5]证实，*PRKAG*3基因中紧邻Arg^{200}的Val^{199}→Ile^{199}突变具有与*RN*基因（Rendement Napole gene，又叫酸肉基因）相反的效应，它使骨骼肌中糖原含量降低，因而有利于改善肉质。由此可以推测，*PRKAG*3基因可能是一个影响肉质性状的主效基因。但目前关于*PRKAG*3基因表达量与肉质关系的研究还未见报道。本试验拟研究汉普夏猪和长撒[长白（L）×撒坝（S）]猪在不同生长阶段骨骼肌中*PRKAG*3基因的表达差异及其与肉质的关系，这对从分子水平研究肉质具有非常重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验设计

采用单因子试验设计，挑选15 kg左右的汉普夏阉公猪17头和长撒阉公猪16头，共计33头猪。2个品种猪在相同环境条件下采用相同的饲粮配方饲喂，在体重分别达到20和50 kg时，每个品种猪尽量挑选体重相近的猪各屠宰5头，测定各发育阶段骨骼肌pH、肌糖原含量和*PRKAG*3基因的表达量；在体重100 kg时，将剩下的7头汉普夏猪和6头长撒猪全部屠宰，除了测定骨骼肌pH、肌糖原含量和*PRKAG*3基因的表达量外，还测定肉质性状。

1.2 试验饲粮

试验饲粮的配制按NRC(2012)标准，分20~50 kg、50~80 kg和80~100 kg 3个阶段进行配制。2个品种猪的饲粮配方相同，具体见表1。

表1 试验饲粮组成及营养水平(饲喂基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (as-fed basis) %

项目 Items	20~50 kg	50~80 kg	80~100 kg

原料 Ingredients			
玉米 Corn	61.52	71.57	78.76
麸皮 Wheat bran	5.00		
大豆粕 Soybean meal	24.5	22.00	15.10
鱼粉 Fish meal	2.00		
大豆油 Soybean oil	2.50	2.20	2.00
石粉 Limestone	0.60	0.70	0.70
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	1.30	1.00	0.90
食盐 NaCl	0.30	0.30	0.30
L-赖氨酸盐酸盐 *L*-Lys•HCl	0.28	0.23	0.24
预混料 Premix	2.00	2.00	2.00
合计 Total	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels			
消化能 DE/(MJ/kg)	13.64	13.89	13.93
粗蛋白质 CP	17.60	15.40	13.00
钙 Ca	0.67	0.55	0.51
总磷 TP	0.66	0.51	0.47
有效磷 AP	0.41	0.29	0.27
可消化赖氨酸 DLys	0.98	0.80	0.67
可消化蛋氨酸 DMet	0.27	0.23	0.20
可消化蛋氨酸＋可消化半胱氨酸 DMet+DCys	0.45	0.46	0.40
可消化苏氨酸 DThr	0.50	0.53	0.44
可消化色氨酸 DTrp	0.14	0.17	0.13

预混料为每千克饲粮提供 The premix provided the following per kg of diets：Fe (as ferrous sulfate) 100 mg，Zn (as zinc sulfate) 100 mg，Mn (as manganese sulfate) 10 mg，Cu (as copper sulfate) 10 mg，Se (as sodium selenite) 0.30 mg，I (as potassium iodide) 0.5 mg，VA 2 000 IU，VD_3 2 000 IU，VE 20 IU，VK_3 30.50 mg，生

物素 biotin 0.05 mg，叶酸 folic acid 0.3 mg，烟酸 nicotinic acid 20 mg，*D*-泛酸 *D*-pantothenic acid 20.0 mg，VB_1 2.5 mg，VB_2 2.0mg，VB_6 1.0 mg，VB_{12} 10.0 μg，氯化胆碱 choline chloride 1.0 g，泰乐菌素 tylosin 30.0 mg，抗氧化剂 antioxidant 200 mg。

1.3 饲养管理

试验猪以圈为单位进行圈养，每头猪占1个圈，进行单圈饲养，试验猪从15 kg开始，到100 kg结束。每天饲喂颗粒料3次（08:00、13:00和18:00），每次以吃足略有剩余为度，自由饮水，2个品种猪饲养管理条件一致。

1.4 样品采集

在体重达20或50 kg屠宰时，在背最长肌第10根肋骨处取2块10 g左右的样品，分别测pH和肌糖原含量。在体重达100 kg屠宰时，在背最长肌第10根肋骨处取3块50 g左右的样品，一块用于测定滴水损失；另一块用于测定pH、肌糖原含量、色度和失水率；最后一块用于测定熟肉率。另取一块100 g左右的腰大肌，用于剪切力的测定，具体测定方法参见文献[6]。每批猪屠宰后快速分离出第10根肋骨处背最长肌样品，剪碎后用含0.1%焦碳酸二乙酯（DEPC）处理过的磷酸盐缓冲液（PBS）冲洗2次，装入消过毒的一次性1.5 mL EP管中，迅速在液氮中冷冻，然后在-70 ℃保存，用于*PRKAG*3基因表达量的测定。

1.5 指标测定

1.5.1 pH 的测定

pH 用专用肉质酸度计测定 pH，具体测定方法参见文献[6]。pH1 指屠宰后 45 min 的 pH、pH2 指屠宰后 24 h 的 pH。

1.5.2 肌糖原含量的测定

采用南京建成生物工程研究所生产的肌糖原测定试剂盒按说明书测定肌糖原含量，因猪屠宰后肌糖原易酵解，因此肌糖原含量在屠宰后第 2 天进行测定。

1.5.3 肉质性状的测定

滴水损失、色度、失水率、剪切力、熟肉率的具体测定方法参见文献[6]。

1.5.4 *PRKAG*3 基因表达量的测定

1.5.4.1 总 RNA 提取及反转录（RT）反应

取背最长肌样品 30 mg，加入液氮并研磨成粉，收集入 1.5 mL EP 管中，提取总 RNA，

提取过程按 QIAGEN 公司试剂盒（Rneasy Mini Kit）操作说明进行。提取的总 RNA 通过凝胶电泳检测其完整性，并测定总 RNA 在 260 和 280 nm 处的 OD 值，以检测 RNA 样品的纯度。将提取的总 RNA 作为模板进行 RT 反应。反应体系：RNA 酶抑制剂 0.25 μL、$MgCl_2$ 2 μL、Oligo dT 引物 1 μL、dNTP Mixture 1 μL、总 RNA 4.25 μL、10×RT 缓冲液 1 μL、反转录酶 0.5 μL，总体积为 10 μL。反应程序：30 ℃ 10 min、42 ℃ 2 h、99 ℃ 5 min、5 ℃ 5 min。

1.5.4.2　引物和 TaqMan 探针的设计与合成

*PRKAG*3 基因与内参基因 β-肌动蛋白（β-actin）引物和探针分别根据基因序列 AF214520 和 U07786 设计，由上海基康生物公司合成。*PRKAG*3 和 β-actin 基因的引物及探针序列见表 2。

表 2　*PRKAG*3 和 β-actin 基因的引物及探针序列

Table 2　Primer and probe sequences of *PRKAG*3 and β-actin genes

基因 Genes	引物序列 Primer sequence	探针序列 Probe sequence
*PRKAG*3	F：GTGCTCCACATCCTCACACATAA R：ATGTGCCGATGCCCAAAT	CTCAAGTTCCTGCACATCTTTGGCACC
β-肌动蛋白 β-actin	F：GCGGTGGCCATCTCGTT R：GATCGTGCGCGACATCAA	TCGAAGTCCAGGGCCACGTAGCA

1.5.4.3　PCR 反应体系与程序

以 cDNA 为模板进行的实时荧光定量 PCR 反应，反应体系总体积为 25 μL。反应体系：cDNA 2 μL、Premix Ex Taq(2×) 12.5 μL、上游引物 0.5 μL、下游引物 0.5 μL、探针(10 μmol/L) 1 μL、ROX Dye Ⅱ(50×) 0.5 μL、0.1%DEPC 处理水 8 μL。反应程序：95 ℃3 min；然后 94 ℃ 25 s，60 ℃ 30 s，共 40 个循环；最后 70 ℃延伸 5 min。

1.5.4.4　定量分析

定量扩增目的基因和内参基因前先绘制标准曲线，根据标准曲线，定量 PCR 仪自动计算出每毫升样本中 *PRKAG*3 和 β-actin 基因的拷贝数，则 *PRKAG*3 基因的表达量为每毫升样

本中 *PRKAG*3 基因的拷贝数与每毫升样本中 β-actin 基因的拷贝数的比值。

1.6 统计分析

采用 SPSS 17.0 统计软件对不同品种猪不同发育阶段的数据进行方差分析和 Duncan 法多重比较，对相同阶段的不同品种猪的数据进行 *t* 检验，并将 *PRKAG*3 基因的表达量与肉质性状进行相关性分析。试验结果用平均值±标准误（mean±SE）表示。

2 结果与分析

2.1 不同品种猪不同生长阶段骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量

汉普夏猪和长撒猪在不同发育阶段骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量如表 3 所示。长撒猪在不同发育阶段骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量均高于汉普夏猪，特别是在 100 kg 阶段，骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量显著高于汉普夏猪（$P<0.05$），是汉普夏猪的 6.81 倍。长撒猪与汉普夏猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量均随体重的增加而增加，但汉普夏猪不同发育阶段骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量差异不显著（$P>0.05$），而长撒猪 100 kg 阶段时骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量显著高于 20 和 50 kg 阶段时（$P<0.05$）。

表 3 汉普夏猪和长撒猪在不同发育阶段骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量

Table 3 *PRKAG*3 gene expression level in skeletal muscle of Hampshire and LS pigs in different growth phases

$\times 10^5$

项目 Item	生长阶段 Growth phases/kg	汉普夏猪 Hampshire pigs	长撒猪 LS pigs	显著性 Significant
*PRKAG*3	20	0.23±0.14	0.45 ± 0.03^a	NS
	50	0.39±0.07	0.52 ± 0.06^a	NS
	100	0.47±0.11	3.20 ± 0.80^b	*

*表示汉普夏猪与长撒猪间差异显著（$P<0.05$），**表示汉普夏猪与长撒猪间差异极显著（$P<0.01$），NS 表示汉普夏猪与长撒猪间差异不显著（$P>0.05$）。下表同。

同一项目不同生长阶段数据肩标不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$），肩标无字母或相同字母表示差异不显著（$P>0.05$）。

* indicated significant difference between Hampshire pigs and LS pigs ($P<0.05$), and ** indicated extremely significant difference between Hampshire pigs and LS pigs ($P<0.01$), while NS indicated no significant difference

between Hampshire pigs and LS pigs （P>0.05）. The same as below.

Values of the same item in the same growth stage with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), while with no or the same letter superscripts mean no significant difference (P>0.05).

2.2 不同品种猪不同生长阶段骨骼肌中肌糖原含量和 pH

汉普夏猪和长撒猪在不同生长阶段骨骼肌中肌糖原含量和 pH 如表 4 所示。在 20 kg 阶段，汉普夏猪和长撒猪骨骼肌中肌糖原含量和 pH1 均无显著差异（P>0.05），但汉普夏猪骨骼肌中 pH2 显著低于长撒猪(P<0.05)；在 50 kg 阶段，汉普夏猪骨骼肌中肌糖原含量和 pH1 均显著高于长撒猪(P<0.05)，pH2 则极显著低于长撒猪(P<0.01)；在 100 kg 阶段，汉普夏猪骨骼肌中肌糖原含量和 pH2 显著低于长撒猪(P<0.05)，而 pH1 则差异不显著（P>0.05）。

表 4　汉普夏猪和长撒猪在不同发育阶段骨骼肌中肌糖原含量和 pH

Table 4　Muscle glycogen content and pH in skeletal muscle of Hampshire and LS pigs in different growth phases

项目 Items	生长阶段 Growth phases/kg	汉普夏猪 Hampshire pigs	长撒猪 LS pigs	显著性 Significant
肌糖原 Muscle glycogen/(mg/g)	20	9.54±2.58	8.82±1.44	NS
	50	4.92±1.24	2.57±0.62	*
	100	7.20±1.72	2.94±0.40	*
pH1	20	6.23±0.02	6.35±0.07	NS
	50	6.28±0.04	6.53±0.03	*
	100	6.50±0.06	6.66±0.07	NS
pH2	20	5.61±0.05	5.73±0.02	*
	50	5.49±0.05	5.79±0.063	**
	100	5.49±0.04	5.63±0.02	*

2.3 不同品种猪肉质性状差异比较

表 5 为汉普夏猪和长撒猪肉质性状的测定结果。数据显示汉普夏猪骨骼肌的剪切力显著低于长撒猪(P<0.05)，滴水损失和失水率显著高于长撒猪(P<0.05)，熟肉率和 b 值极显著低于长撒猪(P<0.01)，而 L 值和 a 值在 2 个品种猪间差异不显著（P>0.05）。

表 5　汉普夏猪和长撒猪肉质性状差异比较

Table 5 Difference comparison between Hampshire and LS pigs for meat quality traits

项目 Items	汉普夏猪 Hampshire pigs	长撒猪 LS pigs	显著性 Significant
剪切力 Shear force/N	29.95±1.33	39.50±1.91	*
滴水损失 Drop loss/%	2.02±0.05	1.88±0.02	*
失水率 Water loss rate/%	14.57±0.54	12.72±0.38	*
熟肉率 Cooked meat percentage/%	62.45±0.57	69.45±1.01	**
L 值 L value	34.86±1.25	36.45±1.04	NS
a 值 a value	5.31±0.76	7.58±0.91	NS
b 值 b value	4.87±0.30	7.74±0.39	**

2.4 不同品种猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因表达量与肉质的相关性分析

表 6 是不同品种猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因表达量与肉质性状的相关性分析，从表中数据可以看出，汉普夏猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量与 pH2 呈显著负相关(P<0.05)，与熟肉率、a 值呈负相关，与滴水损失和 b 值呈正相关，但相关性均不显著（P>0.05），而与 pH1、L 值、失水率和剪切力虽也存在一定的相关性，但相关系数均较小；长撒猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量与 pH2 和 a 值呈负相关，与滴水损失、失水率和 L 值呈正相关，但相关性均不显著（P>0.05），而与 pH1、剪切力、熟肉率和 b 值虽也存在一定的相关性，但相关系数均较小。当不考虑品种效应时，骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量与 pH2 呈显著负相关（P<0.05），与滴水损失和失水率呈负相关，与熟肉率、pH1、L 值、a 值和 b 值呈正相关，但相关性均不显著（P>0.05）。

表 6 骨骼肌中 PRKAG3 基因的表达量与肉质性状间的相关系数

Table 6 Correlation coefficients among *PRKAG*3 gene expression level in in skeletal muscle and meat quality traits

肉质性状 Meat quality traits	汉普夏猪 Hampshire pigs	长撒猪 LS pigs	综合效应 Compositive effect
pH1	0.052	-0.110	0.297
pH2	-0.839*	-0.286	-0.579*

剪切力 Shear force	-0.088	-0.006	-0.049
滴水损失 Drop loss	0.486	0.596	0.548
失水率 Water loss rate	-0.161	0.311	-0.399
熟肉率 Cooked meat percentage	-0.362	-0.177	0.602
L	-0.145	0.353	0.406
a	-0.267	-0.237	0.263
b	0.217	-0.166	0.617

*表示相关系数显著(*P*<0.05)。

*denoted correlation coefficient is significant (*P*<0.05).

为了更一步阐明骨骼肌中 *PRKAG*3 基因表达量与 pH2 之间的关系，将 2 个品种猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量与 pH2 分别作图，如图 1 和图 2 所示。从图中可以看出，尽管汉普夏猪和长撒猪 pH2 随骨骼肌中 *PRKAG*3 基因表达量的变化趋势稍有差异，但 2 个品种猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量均与 pH2 呈负相关。

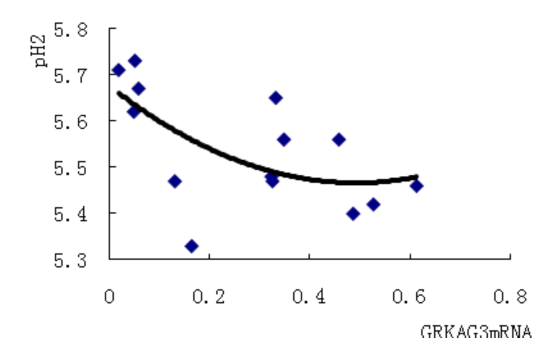


图 1 汉普夏猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量与 pH2 的关系

Fig.1 Relationship between pH2 and *PRKAG*3 gene expression level in skeletal muscle of Hampshire pigs

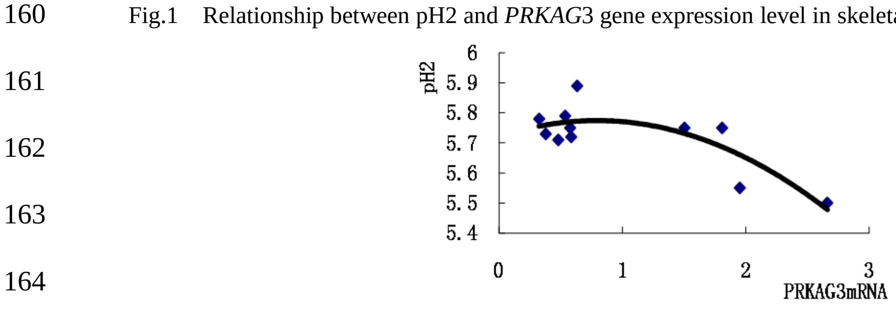


图 2 长撒猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量与 pH2 与的关系

Fig.2 Relationship between pH2 and *PRKAG*3 gene expression level in skeletal muscle of LS pigs

将汉普夏猪和长撒猪各生长阶段骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量与肌糖原含量分别作

图，如图 3 和图 4 所示。从图中可以看出，尽管汉普夏猪和长撒猪肌糖原含量的变化规律不尽一致，但总体上都是随着骨骼肌中 *PRKAG*3 基因表达量的增加而非线性增加。

肌糖原（mg/g）
14
12
10
8
6
4
2
0
0 0.2 0.4 0.6 0.8
PRKAG3mRNA

图 3 汉普夏猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量与肌糖原含量的关系

Fig.3 Relationship between muscle glycogen content and *PRKAG*3 gene expression level in skeletal muscle of Hampshire pigs

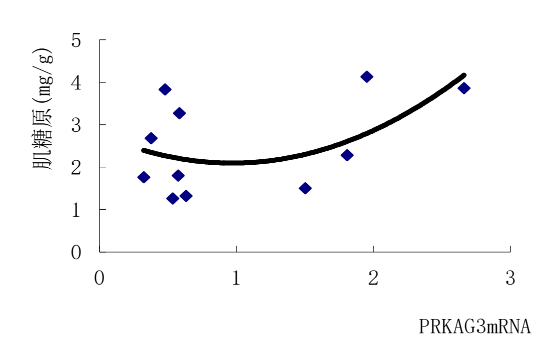


图 4 长撒猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量与肌糖原含量的关系

Fig.4 Relationship between muscle glycogen content and *PRKAG*3 gene expression level in skeletal muscle of LS pigs

3 讨 论

3.1 *PRKAG*3 基因在不同品种猪不同生长阶段骨骼肌中的表达差异

目前关于 *PRKAG*3 基因在猪不同生长阶段骨骼肌中表达差异的研究还未见报道。Milan 等[4]的研究表明，*PRKAG*3 基因中的 Arg^{200}→Gln^{200} 突变可使汉普夏猪 AMPK 的活性降低 3 倍；Galve 等[7]在杜长大猪上的研究表明，*PRKAG*3 基因中 Val^{199}→Ile^{199} 突变可以使腿肌和腰肌中 pH2 分别提高 0.14 和 0.16，但上述研究均没有测定 *PRKAG*3 基因的表达量。本研究结果表明，在不同生长阶段长撒猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量均高于汉普夏猪，特别

是在 100 kg 阶段，长撒猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量是汉普夏猪的 6.81 倍。Barnes 等[8]通过转基因小鼠模型证实 $Val^{199}\rightarrow Ile^{199}$ 可使 *PRKAG*3 基因的表达量大幅降低。而且骨骼肌中高糖原含量可反馈抑制 AMPK 活性[9]。本试验结果也证实，50 和 100 kg 阶段汉普夏猪肌糖原含量均显著高于长撒猪，这可能是汉普夏猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因表达量低于长撒猪的原因。

Mahiapuu 等[10]研究表明，γ3 是糖酵解纤维（IIB 型纤维）中的主要的 AMPKγ 异构体形式，在白色糖酵解纤维的糖代谢中起着非常重要的作用。Scheffler 等[11]研究表明，和正常猪相比，不管是否激活 AMPK，*PRKAG*3 基因中 R225Q 变异均可导致猪骨骼肌中较高的糖原含量。体外试验也表明，AMPKγ3 异构体对 5-氨基-4-咪唑羧基酰胺核苷（AICAR）诱导的葡萄糖转运是必需的，其他 γ 异构体不能补偿该功能[8]。以上结果表明，*PRKAG*3 基因可调节骨骼肌特别是糖酵解纤维中的糖代谢，因而影响骨骼肌中糖原含量，由此可以推断，*PRKAG*3 基因表达量可影响肌糖原含量，进而影响肉质。汉普夏猪和长撒猪在 20 和 50 kg 阶段肌糖原含量差异不显著，而在 100 kg 阶段差异显著，这为这 2 个品种猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因表达量在 20 和 50 kg 阶段差异不显著，而在 100 kg 差异显著提供了依据。至于这 2 个品种猪骨骼肌中 *PRKAG*3 基因的表达量都是随着体重的增加而增加的原因，目前还不清楚，还有待于进一步的研究。

3.2 *PRKAG*3 基因表达量与肉质的关系

已有的研究表明，*PRKAG*3 基因是引起猪肉质性状改变的关键基因，可使猪肉 pH、色度及滴水损失等肉质性状发生改变[4,12]。Uimari 等[13]在约克夏和长白猪上的研究表明，*PRKAG*3 基因外显子中 24E 和 199I 处的变异可提高猪肉品质。Milan 等[4]发现，*PRKAG*3 基因中 R200Q 突变可使 RN^-/RN^-（显性纯合子）和 RN^-/rn^+（杂合子）动物的肌糖原含量提高 70%，高糖原含量导致猪肌肉 pH2 降低，使蛋白质对水的结合力下降，从而使肌肉的系水力降低，并影响肉色、剪切力等指标，且 pH 与其他肉质性状间存在较强的相关性[14]，因而推测 *PRKAG*3 基因表达量与肉质也存在相关性。但关于 *PRKAG*3 基因表达量与肉质的相关性目前还未见报道。本试验结果表明，汉普夏猪 *PRKAG*3 基因表达量与滴水损失和 b 值呈正相关，与熟肉率、a 值呈负相关，与 pH2 呈显著负相关。长撒猪 *PRKAG*3 基因表达量与失水率和 L 值呈正相关，与 pH2、滴水损失、a 值和屠宰率呈负相关。这说明 *PRKAG*3 基因表

达量与肉质间的相关性存在品种效应。Škrlep 等[15]的研究也表明，猪 *PRKAG*3 基因 R200Q 和 I199V 的变异可导致 pH2 降低，而 L 值、a 值、b 值及滴水损失增加。

Enfalt 等[16]从长白和汉普夏杂交猪中分离出*PRKAG*3基因中的3种基因型，即 $RN^-(Val^{199}\rightarrow Gln^{200})$、$rn^+(Val^{199}\rightarrow Arg^{200})$和$rn^*(Ile^{199}\rightarrow Arg^{200})$型，并比较它们对肉质和胴体组成的影响，结果表明*PRKAG*3基因的2个基因型RN^-和rn*型对肉质胴体组成具有相反的效应，即RN^-型个体具有较高的肌糖原含量、高瘦肉率和低的终pH，而rn*型个体则具有较低的肌糖原含量、低瘦肉率和高的终pH。Granlund等[17]在汉普夏猪上的研究表明，$Ile^{199}\rightarrow Arg^{200}$变异可以促进背最长肌中葡萄糖的磷酸化，提高氧化能力并降低糖酵解能力和磷酸酶活性。但随后Riedl等[18]又发现AMPK的γ3异构体对猪肌肉的生长并不是必需的。目前可以肯定的是AMPKγ3异构体变异可控制肌肉对葡萄糖的吸收，并调节糖原的合成，因而影响骨骼肌中糖原的含量，进而影响肉质[8]。但关于*PRKAG*3基因表达量对肉质的影响及其作用机理还有待于进一步的研究。

4 结 论

*PKKAG*3基因在猪骨骼肌中的表达具有品种和生长阶段的差异性，长撒猪骨骼肌中*PKKAG*3基因表达量高于汉普夏猪，且其表达量随着猪体重的增加而增加。*PKKAG*3基因的表达量与肉质相关，特别是与pH2，二者呈负相关。

参考文献：

[1] BARNES B R,GLUND S,LONG Y C,et al.5′-AMP-activated protein kinase regulates skeletal muscle glycogen content and ergogenics[J].The FASEB Journal,2005,19(7):773–779.

[2] HOLMES B F,KURTH-KRACZEK E J,WINDER W W.Chronic activation of 5′-AMP-activated protein kinase increases GLUT-4,hexokinase,and glycogen in muscle[J].Journal of Applied Physiology,1999,87(5):1990–1995.

[3] PINTER K,GRIGNANI R T,WATKINS H,et al.Localisation of AMPK γ subunits in cardiac and skeletal muscles[J].Journal of Muscle Research and Cell Motility,2013,34(5/6):369–378.

[4] MILAN D,JEON J T,LOOFT C,et al.A mutation in *PRKAG3* associated with excess glycogen content in pig skeletal muscle[J].Science,2000,288(5469):1248–1251.

[5] CIOBANU D,BASTIAANSEN J,MALEK M,et al.Evidence for new alleles in the protein

kinase adenosine monophosphate-activated γ_3-subunit gene associated with low glycogen content in pig skeletal muscle and improved meat quality[J].Genetics,2001,159(3):1151–1162.

[6] 杨公社.猪生产学[M].北京:中国农业出版社,2002:148–156.

[7] GALVE A,BURGOS C,VARONA L,et al.Allelic frequencies of PRKAG3 in several pig breeds and its technological consequences on a Duroc×Landrace-Large White cross[J].Journal of Animal Breeding and Genetics,2013,130(5):382–393.

[8] BARNES B R,MARKLUND S,STEILER T L,et al.The 5′-AMP-activated protein kinase γ3 isoform Has a key role in carbohydrate and lipid metabolism in glycolytic skeletal muscle[J].The Journal of Biological Chemistry,2004,279(37):38441–38447.

[9] RICHTER E A,MCDONALD C,KIENS B,et al.Dissociation of 5′AMP-activated protein kinase activity and glucose uptake in human skeletal muscle during exercise[J].Diabetes,2001,50(Suppl.2):A62.

[10] MAHIAPUU M,CARINA J,KERSTIN L,et al.Expression profiling of the γ-subunit isoforms of AMP-activated protein kinase suggests a major role for γ3 in white skeletal muscle[J].American Journal of Physiology : Endocrinology and Metabolism,2003,286(2):E194–E200.

[11] SCHEFFLER T L,PARK S,ROACH P J,et al.Gain of function AMP-activated protein kinase γ3 mutation ($AMPK\gamma3^{R200Q}$) in pig muscle increases glycogen storage regardless of AMPK activation[J].Physiological Reports,2016,4(11):e12802.

[12] LINDAHL G,ENFALT A C,VON SETH G,et al.A second mutant allele (V199Ⅰ) at the *PRKAG3* (*RN*) locus -Ⅰ.Effect on technological meat quality of pork loin[J].Meat Science,2004,66(3):609–619.

[13] UIMARI P,SIRONEN A.A combination of two variants in *PRKAG*3 is needed for a positive effect on meat quality in pigs[J].BMC Genetics,2014,15(1):29.

[14] 朱砺,李学伟,李芳琼,等.肉质性状与胴体性状间的相关分析[J].四川农业大学学报,2002,20(1):20–22.

[15] ŠKRLEP M,KAVAR T,ČANDEK-POTOKAR M.Comparison of *PRKAG*3 and *RYR*1 gene effect on carcass traits and meat quality in Slovenian commercial pigs[J].Czech Journal of Animal Science,2010,55(4):149–159.

[16] ENFALT A C,VONSETH G,LUNDSTROM K,et al. In 48th International Congress of Meat Science and Technology[C].Rome：Food Engineering,2002:618–619.

[17] GRANLUND A,JENSEN-WAERN M,ESSÉN-GUSTAVSSON B.The influence of the *PRKAG3* mutation on glycogen,enzyme activities and fibre types in different skeletal muscles of exercise trained pigs[J].Acta Veterinaria Scandinavica,2011,53(1):20.

[18] RIEDL I,OSLER M E,BJÖRNHOLM M,et al.AMPKγ3 is dispensable for skeletal muscle hypertrophy induced by functional overload[J].American Journal of Physiology：Endocrinology and Metabolism,2016,310(6):E461–E472.

The Expression Difference of *PRKAG*3 Gene in Skeletal Muscle at Different Growth Stages for Different Breeds of Pigs and the Relationships between *PRKAG*3 Gene Expression Level and Meat Quality

LI Mengyun[1,2]　ZHENG Ping[2]　LI Wantao[1]　CHEN Daiwen[2*]

(1. *Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou* 450011, *China*; 2. *Institute of Animal Nutrition, Sichuan Agricultural University, Ya'an* 625014, *China*）

Abstract: This study was conducted to compare the expression difference of *PRKAG*3 gene at different growth stages in skeletal muscle for different breeds of pigs, and to investigate the relationships between *PRKAG*3 gene expression level and meat quality. Seventeen Hampshire-sired barrows（Hampshire pigs）and sixteen Landrance-Saba barrows (LS pigs) with about 15 kg weight body were fed with the same diet in individual pens. Five pigs of each breed of pigs were slaughtered at 20 and 50 kg, and 7 Hampshire pigs and 6 LS pigs were slaughtered at 100 kg, respectively, determining pH, muscle glycogen content, and *PRKAG*3 gene expression, and additional determining meat quality traits at 100 kg. The results showed as follows: 1) The

*Corresponding author, professor, E-mail：　chendw@scau.edu.cn　　（责任编辑　菅景颖）

expression level of *PGKAG*3 gene of LS pigs was higher than that of Hampshire pigs at different growth stages, and was 6.81 folds at 100 kg stage ($P<0.05$). *PGKAG*3 gene expression level was increased with the body weight increasing for the two breeds of pigs, and its expression at 100 kg stage was significantly higher than that at 20 and 50 kg stages for LS pigs ($P<0.05$), but there were no significant differences at different growth stages for Hampshire pigs ($P>0.05$). 2) There was difference in meat quality between Hampshire pigs and LS pigs. Compared with LS pigs, Hampshire pigs had significantly lower pH2 ($P<0.05$), shear force ($P<0.05$), b value ($P<0.01$), significantly higher drip loss ($P<0.05$), water loss rate ($P<0.05$), and higher muscle glycogen content ($P>0.05$). 3) The correlation of *PRGAKG*3 gene expression level in skeletal muscle with meat quality was different between the two breeds of pigs. For Hampshire pigs, *PRKAG*3 gene expression level in skeletal muscle had a positive correlation with drip loss, but had a negative correlation with cooked meat percentage, and had a significantly negative correlation with pH2 （pH at 24 h after slaughter） ($P<0.05$). For LS pigs, PRAKAG3 gene expression level in skeletal muscle had a positive correlation with drip loss or water loss rate, but had a negative correlation with pH2 ($P>0.05$). These results suggest that *PRKAG*3 gene expression in skeletal muscle is changed with different growth stages and different breeds of pigs. *PRKAG*3 gene expression level is correlated with meat quality traits, especially with pH2, and there is a negative correlation between them.

Key words: pigs; *PRKAG*3 gene; expression difference; meat quality; correlation